

**PENGARUH EKSTRAK TERIPANG EMAS (*Stichopus hermanii*)
TERHADAP PENINGKATAN KADAR SITOKIN ANTIINFLAMATORY
IL-10 PADA PENYEMBUHAN LUKA GINGIVA TIKUS WISTAR**



**OGILVIN MARIA WULANDARI
J011211090**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PENGARUH EKSTRAK TERIPANG EMAS (*Stichopus hermannii*)
TERHADAP PENINGKATAN KADAR SITOKIN ANTIINFLAMATORY IL-
10 PADA PENYEMBUHAN LUKA GINGIVA TIKUS WISTAR**

**OGILVIN MARIA WULANDARI
J011211090**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

**PENGARUH EKSTRAK TERIPANG EMAS (*Stichopus hermanii*)
TERHADAP PENINGKATAN KADAR SITOKIN ANTIINFLAMATORY IL-
10 PADA PENYEMBUHAN LUKA GINGIVA TIKUS WISTAR**

OGILVIN MARIA WULANDARI
J011211090

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

pada

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

DEPARTEMEN ILMU ORAL BIOLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK TERIPANG EMAS (*Stichopus hermanii*)
TERHADAP PENINGKATAN KADAR SITOKIN ANTIINFLAMATORY IL-
10 PADA PENYEMBUHAN LUKA GINGIVA TIKUS WISTAR**

OGILVIN MARIA WULANDARI

J011211090

Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Pendidikan Dokter
Gigi pada 20 Juni 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi
Departemen Ilmu Oral Biologi
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing tugas akhir,

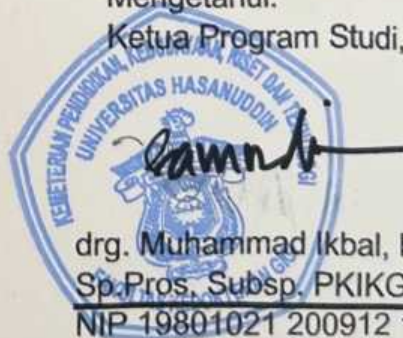


Optimized using
trial version
www.balesio.com

drg.,

2 2 002

Mengetahui:
Ketua Program Studi,



drg. Muhammad Iqbal, Ph.D,
Sp.Prof. Subsp. PKIKG(K)

NIP 19801021 200912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Pengaruh Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermannii*) terhadap Kadar Peningkatan Sitokin Antiinflammatory IL-10 pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Wistar" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Dr. Asmawati drg., M.Kes., PBO. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin

Malaysia, 25 September 2024



55049AMX047974705
UGILVIN MAKKA WULANDARI
J011211090



Optimized using
trial version
www.balesio.com

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria atas berkat dan karunia_nya disetiap langkah penulis dalam menyelesaikan perjalanan skripsi penulis. Penulis menyadari sepenuhnya tanpa adanya motivasi, bantuan dan doa dari berbagai pihak, tugas akhir ini tidak dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus dan sebesar-besarnya kepada :

1. drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D. selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh sivitas akademik atas bantuannya selama penulis menempuh pendidikan .
2. Prof. Dr. Asmawati drg., M.Kes., PBO selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing serta memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi hingga selesai.
3. Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M.Kes selaku penasehat akademik yang telah memberikan nasihat serta dukungan selama penulis menjalani proses perkuliahan.
4. Prof. Dr. Irene Edith Rieuwpassa, drg., M.Si., PBO dan Prof. Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.kes selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Cia dan Bapak Safri selaku pengelola laboratorium atas bantuan, arahannya serta ilmu yang diberikan selama proses penelitian berlangsung.
6. Kedua orang tua tercinta penulis, Papa Petrus Ka'pan dan Mama Martina Darandang dan saudara penulis Bojes dan orlin atas segala pengorbanan bagi penulis baik materi, perhatian, motivasi, kasih sayang dan doa yang tidak ada henti-hentinya untuk penulis selama menempuh pendidikan hingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini
7. Saudari Laras Panca Sakti selaku teman seperjuangan penulis untuk kerja samanya selama penelitian sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Sahabat terbaik penulis khususnya glamping, Nabila, Jessica, Keysa, Ainun, Gita, Shafa, Maya, Wardah, Dini, Lia, Bintang atas segala perhatian, semangat suka dan duka yang kita jalani bersama-sama di FKG untuk meraih impian bersama menjadi seorang dokter gigi.
9. Sahabat Kecil saya Leni dan Ika serta sahabat SMA saya Ela, Gege, Joyce yang selalu memberikan semangat dan mendengarkan keluh kesah penulis selama menyelesaikan skripsi ini.
10. Segenap keluarga besar INKREMENTAL 2021 atas kebersamaan dan rasa saling mendukungnya.

Penulis,



ABSTRAK

OGILVIN MARIA WULANDARI. **Pengaruh Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) Terhadap Peningkatan Kadar Sitokin Antiinflamatory IL-10 pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Wistar** (dibimbing oleh Prof. Dr. Asmawati drg., M.Kes., PBO)

Latar belakang : Diperkirakan 25 % populasi diseluruh dunia mengalami luka pada rongga mulut yang disebabkan beberapa factor, termasuk kerusakan epitel (bakteri, jamur, dan sebagainya), serta gangguan pada sistem kekebalan tubuh, dan defisiensi vitamin. Penyembuhan luka terdiri dari 4 tahap, diantaranya tahapan hemostasis, inflamasi, proliferasi dan remodeling. Interleukin-10 (IL-10) adalah salah satu sitokin anti inflamasi yang berfungsi menghambat produksi beberapa jenis sitokin lain dan menghambat fungsi makrofag dalam membantu aktivasi sel T dalam proses penyembuhan luka. Teripang emas merupakan salah satu biota laut Indonesia yang sangat bermanfaat dan tersebar hampir di seluruh perairan Indonesia. Teripang memiliki beberapa komponen yang bekerja dalam proses penyembuhan luka, antara lain asam lemak, kondroitin sulfat, saponin, teriperten glikosida, glikosaminoglikan (GAG), dan lebih dari 70% kolagen. **Metode** : Jenis penelitian yang digunakan berupa penelitian eksperimen laboratoris dengan desain penelitian post-test-only-controlled group untuk menentukan pengaruh ekstrak teripang emas terhadap peningkatan IL-10 pada penyembuhan luka gingiva tikus wistar dengan menggunakan metode maserasi dan uji ELISA pada darah awal, hari ketiga dan kelima. **Hasil** : Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) dengan konsentrasi 20%,40%, dan 80% ternyata memiliki efek antiinflamasi yang sama dengan kelompok positif (Kenalog in orabase) dalam meningkatkan IL-10 pada proses penyembuhan luka. Ekstrak teripang emas 40% memiliki rerata peningkatan IL-10 yang tinggi dalam proses penyembuhan luka gingiva tikus wistar. **Kesimpulan** : Gel ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) memiliki efek yang signifikan dalam meningkatkan kadar IL-10 pada proses penyembuhan luka. Konsentrasi 40% dari ekstrak teripang emas memiliki hasil peningkatan kadar IL-10 dibandingkan konsentrasi 20%, dan 80%..

Kata kunci: Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*), interleukin 10, luka gingiva tikus wistar



ABSTRACT

OGILVIN MARIA WULANDARI. **Effect of Golden Sea Cucumber Extract (*Sthicopus hermanii*) on Increasing Levels of Antiinflammatory Cytokine IL-10 in Gingival Wound Healing of Wistar Rats.** (supervised by Prof. Dr. Asmawati drg., M.Kes., PBO)

Background : It is estimated that 25% of the population worldwide experience wounds in the oral cavity due to several factors, including epithelial damage (bacteria, fungi, etc.), as well as disorders of the immune system, and vitamin deficiencies. Wound healing consists of 4 stages, including the stages of hemostasis, inflammation, proliferation and remodeling. Interleukin-10 (IL-10) is one of the anti-inflammatory cytokines that inhibits the production of several other types of cytokines and inhibits macrophage function in assisting T cell activation in the wound healing process. Golden sea cucumber is one of Indonesia's marine biota that is very useful and spread almost throughout Indonesian waters. Sea cucumbers have several components that work in the wound healing process, including fatty acids, chondroitin sulfate, saponins, teriperten glycosides, glycosaminoglycans (GAG), and more than 70% collagen. **Methods** : The type of research used is laboratory experimental research with a post-test-only-controlled group research design to determine the effect of golden sea cucumber extract on increasing IL-10 in wistar rat gingival wound healing using the maceration method and ELISA test on the initial blood, third and fifth days. **Results** : Gold sea cucumber extract (*Sthicopus hermanii*) with concentrations of 20%, 40%, and 80% was found to have the same anti-inflammatory effect as the positive group (Kenalog in orabase) in increasing IL-10 in the wound healing process on the third and fifth days. The 40% golden sea cucumber extract has a high average increase in IL-10 in the wound healing process of wistar rat gingiva. **Conclusion** : Golden sea cucumber (*Sthicopus hermanii*) extract gel has a significant effect in increasing IL-10 levels in the wound healing process. The 40% concentration of golden sea cucumber extract has the result of increasing IL-10 levels compared to the 20%, and 80% concentrations.

Keywords: golden sea cucumber extract (*Sthicopus hermanii*), interleukin-10, gingival wound's of wistar rats



DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK	v
<i>ABSTRACT</i>	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4. 1 Manfaat Akademis	3
1.4. 2 Manfaat Praktis.....	3
BAB II METODE PENELITIAN	4
2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	4
2.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	4
2.2. 1 Lokasi Penelitian.....	4
2.2. 2 Waktu Penelitian.....	4
2.3 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian	4
2.3. 1 Variabel Penelitian.....	4
2.3. 2 Definisi Operasional Penelitian.....	4
2.4 Teknik dan Besar Sampel Penelitian	5
2.4. 1 Teknik Sampling	5
2.4. 2 Sampel Penelitian.....	5
2.5 Prosedur Penelitian	5
alat dan Bahan	5
Ekstrak Percobaan	6
Tuka Insisi pada Hewan Coba	7
sian Ekstrak terhadap Hewan Coba	7
n Sampel Darah.....	7



2.5. 6 Analisis Kadar Interleukin 10 menggunakan Metode ELISA (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>)	8
2.6 Analisis Data.....	8
2.7 Alur penelitian.....	9
BAB III HASIL PENELITIAN	10
3. 1 Hasil.....	10
3.1. 1 Kadar Rerata Darah Awal Sebelum Inflamasi Pada Tiap Kelompok	11
3.1. 2 Kadar Rerata Darah Hari Ketiga Setelah Insisi dan Pengaplikasian Bahan Uji	12
3.1. 3 Kadar Rerata Darah Hari Kelima Setelah Insisi dan Pengaplikasian Bahan Uji	14
3.1. 4 Kadar Rerata Peningkatan IL-10 Pada Hari Ketiga.....	16
3.1. 5 Kadar Rerata Peningkatan IL-10 Pada Hari Kelima.....	17
3. 2 Pembahasan	20
BAB IV KESIMPULAN	23
DAFTAR PUSTAKA.....	24



DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Uji deskriptif rerata IL-10 sebelum perlakuan	11
2. Uji normalitas rerata IL-10 sebelum perlakuan	11
3. Uji homogenitas rerata IL-10 sebelum perlakuan	11
4. Uji ANOVA rerata IL-10 sebelum perlakuan.....	12
5. Uji deskriptif rerata IL-10 hari ketiga setelah dilakukan insisi dan pengaplikasian	12
6. Uji Normalitas rerata IL-10 hari ketiga setelah insisi dan pengaplikasian bahan uji.....	13
7. Uji homogenitas rerata IL-10 hari ketiga setelah insisi dan pengaplikasian bahan uji.....	13
8. Uji ANOVA rerata IL-10 hari ketiga setelah insisi dan pengaplikasian bahan uji.....	13
9. Uji deskriptif rerata IL-10 hari kelima setelah insisi dan pengaplikasian bahan uji.....	14
10. Uji normalitas rerata IL-10 hari kelima setelah insisi dan pengaplikasian bahan uji.....	15
11. Uji homogenitas rerata IL-10 hari kelima setelah insisi dan pengaplikasian bahan uji.....	15
12. Uji ANOVA rerata IL-10 hari kelima setelah insisi dan pengaplikasian bahan uji.....	15
13. Uji deskriptif peningkatan IL-10 hari ketiga	16
14. Uji normalitas peningkatan IL-10 pada hari ketiga.....	16
15. Uji homogenitas peningkatan IL-10 pada hari ketiga.....	17
16. Uji ANOVA peningkatan IL-10 pada hari ketiga	17
17. Uji deskriptif peningkatan IL-10 pada hari kelima	18
Uji deskriptif peningkatan IL-10 pada hari kelima.....	18
Uji normalitas peningkatan IL-10 pada hari kelima.....	18
Uji homogenitas peningkatan IL-10 pada hari kelima.....	18
Uji ANOVA peningkatan IL-10 pada hari kelima.....	18
Uji post-hoc LSD (Least Significant Difference) kadar IL-10	20



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Surat Tugas.....	27
Lampiran 2 : Form Amandemen Surat Etik.....	28
Lampiran 3 : Amandemen Surat etik	29
Lampiran 4 : Surat Izin Penelitian	30
Lampiran 5 : Daftar Hadir Seminar Proposal	33
Lampiran 6 : Daftar Hadir Seminar Hasil	34
Lampiran 7 : Berita Acara	35
Lampiran 8 : Kartu Kontrol Bimbingan	36
Lampiran 9 : Dokumentasi Penelitian	53
Lampiran 10 : Daftar Riwayat Hidup	62
Lampiran 11 : Rincian Biaya	63



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka merupakan rusaknya sebagian struktur sel dan jaringan yang mengakibatkan terbuka atau pecahnya jaringan, sehingga dapat menimbulkan gangguan anatomi dan fungsional. Luka mengakibatkan hilangnya kontinuitas epitel dengan atau tanpa hilangnya jaringan ikat dibawahnya. (Hakim, Fakhurrazi & Dinni 2019) Diperkirakan bahwa lebih dari 25% populasi di seluruh dunia mengalami luka pada rongga mulut yang disebabkan beberapa faktor, termasuk kerusakan epitel (bakteri, jamur, dan sebagainya), serta gangguan pada sistem kekebalan tubuh, defisiensi vitamin, dan masalah dalam pencernaan. (Mulawarmanti D. 2019)

Penyembuhan luka melibatkan respons seluler dan biokimia yang terjadi baik secara lokal maupun sistemik, dan melibatkan serangkaian tahapan yang dinamis dan kompleks. (Primadina et al. 2019) Penyembuhan luka terdiri dari 4 tahap berkelanjutan, diantaranya tahapan hemostasis, inflamasi, proliferasi dan remodeling. Meskipun berlangsung secara berurutan, serangkaian proses ini tumpang tindih antara satu sama lain, dengan prinsip dasarnya bahwa satu proses menjadi dasar bagi kelanjutan proses-proses lainnya. (Indriana et al, 2022) Interleukin-10 (IL-10) adalah salah satu sitokin anti inflamasi yang berfungsi menghambat produksi beberapa jenis sitokin lain (TNF, IL-1, chemokine dan IL-12) serta menghambat fungsi makrofag dalam membantu aktivasi sel T dalam proses penyembuhan luka. Dampak akhir dari aktivitas IL-10 adalah hambatan reaksi anti inflamasi non spesifik maupun spesifik yang perantara sel T, karena itu IL-10 disebut juga sebagai *cytokine synthesis inhibitory factor* dan sitokin anti inflamasi. (Sandiah et al. 2020)

Dalam pengobatan luka insisi, penggunaan obat konvensional seperti antibiotik topikal umumnya diterapkan. Antibiotik yang digunakan dapat berupa senyawa alami atau sintetik yang bertujuan untuk menghambat dan menghentikan infeksi mikroba. Pemberian antibiotik yang tidak sesuai dapat menimbulkan dampak negatif, seperti resistensi mikroorganisme terhadap obat tersebut, peningkatan efek samping obat, bahkan sampai menyebabkan kematian. Resistensi antibiotik dapat terjadi akibat penggunaan antibiotik dengan dosis yang tidak tepat. Oleh karena itu diperlukan alternatif lain dengan memanfaatkan pengobatan berbasis

herbal memiliki beberapa keunggulan jika dibandingkan dengan senyawa kimia, seperti memberikan efek samping yang a potensi dan efektivitas yang cukup tinggi (Febryanto et al.

nesia adalah negara kepulauan tropis terbesar dan negara antara 198 negara dan 55 wilayah di dunia, Indonesia merupakan njang memiliki 18.000 pulau dan garis Pantai sepanjang 81.000



km. Sekitar 75% wilayah Indonesia merupakan lautan, sehingga Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati. Keanekaragaman biota laut di Indonesia begitu luas sehingga disebut sebagai negara dengan tingkat variasi tertinggi atau “*Mega diversity in the World*”(Mulawarmanti, 2019)

Teripang emas merupakan salah satu biota laut Indonesia yang sangat besar manfaatnya dan tersebar hampir di seluruh perairan Indonesia. Teripang merupakan bagian penting dari ekosistem laut yang tersebar di seluruh lautan di dunia. Jumlah spesies teripang yang ada saat ini adalah sekitar 125 spesies. Perairan Indonesia memiliki 53 jenis teripang yang meliputi genus *Holothuria*, *Actinopyga*, *Bohadschia*, *Labiodemas*, *Thelonata* dan *Stichopus*.(Safithri et al. 2018)

Teripang termasuk dalam kelompok hewan invertebrata yang merupakan hewan berkulit duri (*Echinodermata*), memiliki potensi ekonomi yang signifikan karena mengandung berbagai zat yang berguna dan dapat dijadikan sebagai sumber protein hewani, obat luka dan anti inflamasi.(Sunarjo et al. 2017) Teripang memiliki beberapa komponen yang bekerja dalam proses penyembuhan luka, antara lain asam lemak, kondroitin sulfat, saponin, teriperten glikosida, glikosaminoglikan (GAG), dan lebih dari 70% kolagen. Tingginya kandungan protein dalam ekstrak teripang emas dapat mempercepat regenerasi sel-sel yang rusak pada luka, yang akhirnya mempercepat proses penyembuhan. Kandungan protein pada ekstrak teripang diketahui merangsang interaksi antara antara PDGF (*platelet derived growth factor*) dan TGF (*transforming growth factor*) untuk proliferasi fibroblast,serta merangsang FGF (*fibroblast growth factor*) untuk memacu pertumbuhan fibroblast, yang secara keseluruhan mendukung proses penyembuhan luka yang lebih cepat.(Alpayet et al. 2023)

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) terhadap peningkatan kadar sitokin anti inflamasi Interleukin 10 melalui pada proses penyembuhan luka gingiva tikus wistar, sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan dan diaplikasikan dalam dunia medis di masa mendatang.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) berpengaruh terhadap peningkatan kadar sitokin antiinflamatory IL-10 pada proses penyembuhan luka gingiva tikus wistar?



elitian

k mengetahui pengaruh ekstrak teripang emas (*Stichopus* hadap peningkatan kadar sitokin antiinflamatory IL-10 pada mbuhan luka gingiva tikus wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar teori untuk menambah wawasan ilmu kedokteran gigi dalam pemanfaatan teripang emas (*Sthicopus hermanii*).
2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk pengembangan penelitian selanjutnya dalam bidang kesehatan, khususnya tentang penyembuhan luka rongga mulut.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Penelitian ini dapat digunakan untuk meningkatkan pelayanan kesehatan rongga mulut dengan menggunakan bahan alami berupa hasil laut syang mudah didapatkan oleh Masyarakat.
2. Masyarakat dapat memanfaatkan bahan yang selama ini masih jarang digunakan, sehingga nilai guna teripang emas bisa meningkat.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Dipilih karena baik pada sampel maupun perlakuan dapat terkendali, terukur lebih dapat dipercaya. Adapun rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan dengan *the post only control group design*, yaitu kelompok yang diberi perlakuan dan kelompok kontrol kemudian dilakukan observasi.

2.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

2.2.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Universitas Hasanuddin, Laboratorium Biofarmasi Universitas Hasanuddin, dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

2.2.2 Waktu Penelitian

Bulan Januari 2024 – Mei 2024.

2.3 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

2.3.1 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1. Variabel dependen : Sitokin Interleukin 10 (IL-10)
2. Variabel independen : Ekstrak teripang emas (*Sthicopus hermanii*)
3. Variabel kendali : Tikus wistar

2.3.2 Definisi Operasional Penelitian

1. Ekstrak teripang emas (*Sthicopus hermanii*) adalah kandungan senyawa aktif dari teripang emas yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol.
2. Hewan uji adalah tikus wistar jantan yang berumur sekitar 6-8 minggu yang diadaptasi dengan lingkungan laboratorium selama 7 hari. Eksperimen dilakukan sesuai dengan kode etik untuk pengelolaan hewan coba.

Interleukin 10 (IL-10) adalah sitokin anti-inflamasi selama jadinya infeksi. Sekresi IL-10 penting untuk melimitasi respon imun yang berlebihan untuk mempercepat proses penyembuhan serta meminimal timbulnya jatingan parut.

ELISA adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur antibodi atau antigen terhadap virus, bakteri, dan bahan lainnya. ELISA menggunakan prinsip imunologi dasar dari antigen



yang mengikat antibodi spesifiknya, sehingga memungkinkan deteksi sejumlah kecil antigen seperti protein, peptida, hormon, atau antibodi dalam sampel cairan.

2.4 Teknik dan Besar Sampel Penelitian

2.4.1 Teknik Sampling

Jumlah sampel dalam penelitian dibagi menjadi 4 kelompok dan dapat dihitung dengan menggunakan rumus Federer :

$$\text{Rumus Federer : } (n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$(n-1)4 \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15+4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \approx 5$$

Keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok.

t = banyaknya kelompok jumlah intervensi atau pengamatan.

Berdasarkan perhitungan di atas didapatkan minimal jumlah 5 tikus wistar untuk 5 macam kelompok perlakuan, sehingga didapatkan jumlah keseluruhan hewan coba dalam penelitian ini adalah 25 ekor.

2.4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan yaitu hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 25 ekor tikus wistar dengan bahan uji yaitu ekstrak teripang emas (*Sthycopus hermanii*) dengan tujuan untuk mengetahui peningkatan kadar interleukin 10 melalui ELISA kit, dengan kriteria :

1. Kriteria Inklusi
 - a. Tidak memiliki cacat fisik
 - b. Jenis kelamin jantan
 - c. Berat badan 150-250 gram
 - d. Umur sekitar 6-8 minggu
2. Kriteria Eksklusi
 - a. Tikus tidak dalam keadaan sehat
 - b. Aktivitas dan tingkah laku tikus tidak normal

Tikus mati saat penelitian



Penelitian dan Alat dan Bahan at

Pinset

Timbangan analitik

3. Gelas Erlenmeyer
4. Batang pengaduk
5. Kertas saring
6. *Rotary evaporator*
7. Toples
8. *Scalpel*
9. *Blade*
10. Pipa kapiler
11. Disposable syringe
12. Tabung vakum
13. Tabung evendor centrifuge
14. *ELISA reader*

b. Bahan

1. *Handscoon*
2. Maskes
3. Teripang emas (*Sthicopus hermannii*)
4. *Methanol*
5. Tikus wistar jantan
6. Eter teknis
7. Kapas besar
8. *Aluminium foil*
9. *Rat IL-6 ELISA Kit*
10. *Rat IL-10 ELISA Kit*

2.5. 2 Pengolahan Ekstrak Percobaan

- 1) Teripang segar dibersihkan dan dipotong kecil kemudian dipisahkan dari bagian yang tidak dibutuhkan lalu ditimbang untuk didapatkan berat bersih.
- 2) Sampel direndam dengan metanol sebanyak 400 ml dalam bejana maserasi ditutup dan dibiarkan selama 24 jam dan terlindung dari Cahaya matahari, kemudian disaring.
- 3) Ekstraksi dilakukan dengan menimbang serbuk teripang emas yang sudah kering sebanyak 300 gram.
- 4) Sampel kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer, diberi pelarut metanol dengan perbandingan 1 (teripang) : 5 (metanol) hingga sampel terendam, kemudian wadah di baluti *aluminium foil*.
- 5) Sampel di maserasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Proses maserasi dilakukan 3 kali sampai didapatkan maserat berwarna kuning.
 Hasil maserasi yang berupa larutan disaring dengan kertas saring sehingga didapat filtrat dan residu.



- 7) Ekstrak methanol yang diperoleh dipisahkan menggunakan bantuan *rotary evaporator* yang bertujuan untuk memperoleh senyawa hasil ekstraksi yang diinginkan.
- 8) Filtrat yang diperoleh disentrifuge dengan kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit dengan suhu yang digunakan adalah 40°C, agar senyawa bioaktif tidak rusak oleh pemanasan dengan suhu yang tinggi.
- 9) Ekstrak kemudian dilarutkan dengan CMC agar menjadi bentuk gel dan dapat diberikan pada hewan coba melalui topikal..

2.5.3 Perlakuan Luka Insisi pada Hewan Coba

Hewan coba yang akan dilakukan luka insisi sebelumnya diadaptasi selama satu minggu. Kemudian insisi dengan diberikan perlakuan anestesi terlebih dahulu. Luka sayat dibuat sepanjang 1 cm dengan kedalaman 1 mm pada bagian mukosa bibir tikus dengan menggunakan scalpel steril, blade yang digunakan merupakan disposable blade, darah yang keluar dibersihkan dengan akuades. Selama penelitian tikus diperlakukan sebaik mungkin, tikus diusahakan tidak lapar, tidak haus, bebas stres, dan leluasa bergerak. Pemberian pakan dan air minum dilakukan setiap hari *ad libitum*. Kandang ditempatkan di ruangan yang tenang, tidak bising, suhunya teratur, kelembaban, dan cukup Cahaya. Kebersihan kandang juga harus dijaga setiap hari.

2.5.4 Pengaplikasian Ekstrak terhadap Hewan Coba

Luka pada tikus diberi perlakuan sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan sebanyak 2 kali sehari dengan rentang waktu 8-9 jam dengan cara mengoleskan gel ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) di area luka insisi selama 10 hari. Pemberian Kenalogin Orabase sebagai kontrol positif pada kelompok tikus 1 (K1), kemudian pemberian basis gel CMC sebagai kontrol negatif pada kelompok tikus 2(K2). Pemberian gel ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) pada area yang dilakukan luka insisi dengan konsentrasi bertingkat, 20% pada kelompok tikus perlakuan 1 (P1), 40% pada kelompok tikus perlakuan 2 (P2), dan 80% pada kelompok tikus perlakuan 3 (P3).



nbilan Sampel Darah

Setiap tikus wistar diambil sampel darahnya yakni dengan susukkan tikus ke dalam toples yang telah diberi eter pada s. Setelah tikus pingsan, pengambilan darah dilakukan dengan gunakan pipa kapiler lalu darah dimasukkan ke dalam tabung

2.5.6 Analisis Kadar Interleukin 10 menggunakan Metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

Pemeriksaan kadar serum interleukin-10 dilakukan dengan menggunakan alat ELISA. Prinsip pemeriksaan adalah plat mikro dilapisi dengan antibodi IL-10. Interleukin-10 yang terdapat dalam sampel akan mengikat antibodi yang dilapisi pada plat mikro. Antibodi IL-10 yang terbiotinilasi (mengikat biotin secara kovalen ke protein, asam nukleat, atau molekul lainnya) ditambahkan dan berikatan dengan IL-10 dalam sampel. Kemudian Streptavidin-HRP ditambahkan dan mengikat antibodi IL-10 yang terbiotinilasi. Setelah inkubasi, Streptavidin-HRP yang tidak terikat dihilangkan selama langkah pencucian. Substrat kemudian ditambahkan dan terjadi perubahan warna secara proporsional dengan kadar IL-10. Reaksi akan diakhiri dengan penambahan *stop solution* dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 450 nm.

2.6 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan analisis kuantitatif. Data ini menggunakan uji one way ANOVA dengan menggunakan program SPSS (Statistical Package for Social Science) dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikansinya. *One way Anova* digunakan karena penelitian ini menggunakan lebih dari dua kelompok untuk menguji generalisasi sehingga dua sampel dianggap mewakili populasi. Apabila antar kelompok perlakuan diperoleh hasil yang berbeda nyata maka dilanjutkan uji tukey $\alpha = 0,05$ untuk melihat dan menganalisa perbedaan antar kelompok perlakuan.



2.7 Alur penelitian

